



На правах рукописи

Лукоянова Любовь Александровна

Патогенетическое обоснование использования гирудотерапии
при интоксикационном синдроме у собак

16.00.02 - патология, онкология и морфология животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург
2009

10 СЕЧ 2009

Работа выполнена на кафедре патологической физиологии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины».

Научный руководитель - доктор ветеринарных наук, доцент
Крячко Оксана Васильевна

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор
Байматов Валерий Нурмухаметович

доктор ветеринарных наук, профессор
Кудряшов Анатолий Алексеевич

Ведущая организация – ФГОУ ВПО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится – «_8_»_октября 2009 г. в 13.00 на заседании диссертационного совета Д 220.059.01 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан «~~4~~» сентября 2009г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор ветеринарных наук



Крячко О.В.

Общая характеристика работы.

1.1. Актуальность темы

У собак в настоящее время широко распространены заболевания с выраженным интоксикационным синдромом, в наибольшей степени он проявляется при гепато- и нефропатиях, некоторых инфекционных и паразитарных заболеваниях. Интоксикационный синдром является одной из важнейших проблем владельцев животных и держателей питомников. Предрасполагают к возникновению интоксикаций факторы, снижающие естественную резистентность организма животных (нарушение правил кормления и содержания, загрязненная экология и т.п.) (Анохин Б. М., 1999, Старченков С. В. 2001).

По данным статистики ветеринарных клиник на долю гепатита и гепатоза в среднем приходится 5 - 25% от числа всех обращений в клинику по поводу незаразных болезней собак. Нефропатии встречаются в 10 - 25% случаев. При заболеваниях, сопровождающихся интоксикационным синдромом, требуется длительное, дорогостоящее и достаточно трудоемкое лечение, не всегда приводящее к благоприятному исходу. Больным животным требуются внутривенные инфузии (что затруднено для мелких пород или агрессивных животных), большое количество медикаментов, имеющие, зачастую, побочные эффекты, дороги при длительной курсовой терапии (Анохин, Б. М., Никонов, Г. И. 1999).

В гуманной медицине выполнено большое количество исследований, выявляющих положительные свойства гирудотерапии при интоксикационном синдроме. С помощью гирудотерапии достигается стабильное улучшение, а зачастую полное излечение при широком спектре заболеваний людей (Крашенюк А. И., 2004, Казьмин В, 2008, Герашенко Л., 2009).

Установлено, что в секрете пиявки (*Hirudo medicinalis*), поступающий пациенту во время кровососания, содержится около 80 биологически активных веществ, структура которых в значительной степени изучена, исследован механизм их действия. (Крашенюк А. И., 1994, Живогляд Р. Н., 1997, Никонов Г. И., 2001)

Лечебный эффект гирудотерапии складывается из нескольких факторов: рефлекторного, механического и биологического. Рефлекторное действие пиявка оказывает при прокусывании кожи в биологически активных точках. Механическое действие: выражается в разгрузке регионального кровотока пиявками. Биологическое действие обеспечивается благодаря наличию в слюне пиявки целой гаммы биологически активных веществ, их структура в значительной степени изучена, исследован и механизм действия. Так гирудин - мощный ингибитор тромбина, блокирует свертывание фибриногена, замедляет активацию тромбином факторов свертывания V.VIII, XIII. препятствуют агрегации тромбоцитов, кроме того, биологически активные вещества, имеющиеся в секрете слюнных желез пиявки, это ингибиторы пламина, трипсина, альфа-химотрипсина, субтилизина, эла-

стазы, катепсина G; простагландины, простациклины, гиалуронидаза, липаза, дестабилаза. В кишечном канале медицинской пиявки обитает бактерия-симбионт *Aegomonas hydrophilia*, обеспечивающая бактериостатический эффект.

Актуальность применения метода гирудотерапии в ветеринарной практике определена следующими основными моментами: большей эффективностью в лечении ряда заболеваний, чем при использовании медикаментозной терапии; относительной простотой в применении; отсутствием побочных эффектов; практически полным отсутствием противопоказаний.

Зачастую это метод выбора при наличии аллергических и тяжелых сопутствующих заболеваний, при медикаментозной непереносимости. (Павлова Т. В., 2008)

В ветеринарной медицине встречаются единичные работы, посвященные лечебному применению пиявок (Попова И.С., 2003, Туркевич В.В., 2005), именно это и определило цели и задачи нашей работы.

Цель и задачи исследования.

Целью исследования являлась разработка схемы гирудотерапии при заболеваниях собак, сопровождающихся интоксикационным синдромом.

Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

1. Разработать технику постановки пиявок, применимую для собак.
2. Изучить влияние гирудотерапии на различные звенья гемопоэза у собак.
3. Изучить влияние гирудотерапии на основные показатели, характеризующие обменные процессы в организме собак при экспериментальном интоксикационном синдроме.
4. Определить влияние гирудотерапии на ферментативную активность сыворотки крови.
5. Выявить лечебный эффект применения гирудотерапии в эксперименте и клинической практике.

Научная новизна работы.

Впервые проведены экспериментальные исследования по изучению влияния гирудотерапии на основные показатели гемопоэза и обмена веществ у собак при моделировании интоксикационного синдрома у собак.

Установлено, что использование гирудотерапии способствует устранению симптомов интоксикации эффективнее, чем карсил, применяемый с этой целью.

Было выявлено нормализующее влияние гирудотерапии на состояние обменных процессов у собак в процессе купирования интоксикационного синдрома.

Практическая значимость работы.

Автором разработаны методические рекомендации «По применению гирудотерапии при интоксикационном синдроме у собак», утвержденные

методическим советом ФГОУ ВПО «СПбГАВМ» 13 марта 2008 года, они используются в ветеринарных учреждениях города Санкт-Петербурга.

Реализация результатов исследований.

Результаты исследований внедрены в клиническую практику ветеринарных центров «Прайд» и «Велес» города Санкт-Петербурга.

Материалы исследований используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедре патологической физиологии СПбГАВМ, на кафедре анатомии, гистологии и патофизиологии Вятской ГСХА, на кафедре патологической физиологии Московской ГАВМиБ, на кафедре ветеринарии Великолукской ГСХА.

Апробация материалов исследований.

Основные результаты диссертации доложены, обсуждены и одобрены на международной конференции по патофизиологии животных (Санкт-Петербург, 2008), на научных конференциях молодых ученых и студентов СПбГАВМ (Санкт-Петербург, 2006, 2007, 2008), на конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ (Санкт-Петербург, 2006, 2007, 2008).

Публикации.

Основные результаты исследований по теме диссертации опубликованы в 9 печатных работах, в том числе одна в издании, рекомендованном ВАК РФ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Методика моделирования интоксикационного синдрома, его влияние на гемопоэз и метаболические процессы в организме собак.

2. Влияние гирудотерапии на биохимические показатели сыворотки крови, гематологические показатели и на свертывающую систему крови при интоксикационном синдроме у собак.

3. Апробация гирудотерапии в клинической практике.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 125 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов, практических предложения, списка использованной литературы, включающего 166 наименований, в том числе 32 иностранных авторов, и приложений. Работа содержит 16 таблиц и 24 рисунка.

2 Собственные исследования.

2.1. Материалы и методы.

Исследования проводились с 2004 по 2008 г на кафедре патологической физиологии ФГОУ ВПО «СПбГАВМ» и на базе ветеринарных центров «Прайд» и «Велес» г. Санкт-Петербурга.

Экспериментальные исследования были проведены в 2 этапа в условиях вивария СПбГАВМ.

Целью первого этапа экспериментальных исследований было моделирование одноклеточного интоксикационного синдрома у группы собак и исследование влияния гирудотерапии на клинические и биохимические показатели крови и общего состояния животных.

Для эксперимента были подобраны беспородные собаки одного возраста (на момент начала опыта 2 мес.), среднего размера (вес до 15 кг), кобели и суки в одинаковом соотношении. Животных содержали в одинаковых условиях вивария СПбГАВМ на одном рационе. В возрасте 2,5 месяца и 3 месяца щенкам была проведена плановая вакцинация вакциной Nobivac.

В 4-х месячном возрасте все подопытные собаки были подвергнуты полному клиническому обследованию. По результатам обследования у животных была выявлена глистная инвазия в 100% случаев (подтверждено копрологическим и гематологическим исследованиями). При клиническом обследовании другой патологии выявлено не было.

Для устранения глистной инвазии и моделирования интоксикационного синдрома нами был применен препарат ивомек в дозе 0,05 мл/кг, который вводили подкожно, трехкратно с интервалом в 7 дней. Для удобства дозирования препарат был разведен нами 1:10 в 0,5 % растворе новокаина.

По данным клинического обследования, копрологического, гематологического и биохимического исследований крови после применения препарата ивомек глистная инвазия была устранена. Но вследствие применения высокотоксичного препарата проявился интоксикационный синдром (потеря аппетита, рвота, диарея, вялость, потускнение и взъерошенность шерстного покрова).

Далее были сформированы подгруппы по клиническим показателям не отличающиеся друг от друга (подопытная и контрольная). Животным из первой (подопытной) группы проводили детоксикацию методом гирудотерапии: 4 сеанса, 1 сеанс в неделю в дозе 1 пиявка на 5 кг живой массы. Контрольным животным применяли препарат карсил, в дозировке 1 таблетка на 5 кг веса животного 1 раз в день в течение 30 дней.

Во время лечения животные находились под клиническим наблюдением, через 30 суток после начала лечения проводили клинические и биохимические исследования крови.

Влияние гирудотерапии на концентрацию фибриногена определяли за один день до первого сеанса лечения и через неделю после последнего (интервал между исследованиями составлял 30 дней).

Целью второго этапа исследования была клиническая апробация метода на базе ветеринарных клиник города Санкт-Петербурга, при лечении собак с патологией печени, протекающей на фоне интоксикации организма.

Исследования были проведены на 126 взрослых собаках в возрасте от 2-х до 9-ти лет с патологией печени, приводящей к интоксикационному синдрому. Собаки принадлежали частным владельцам, обратившимся в

ветеринарную клинику. У всех животных был ярко выражен интоксикационный синдром, подтвержденный данными анамнеза, результатами клинического обследования, биохимическими исследованиями сыворотки крови. У всех животных отмечали диспепсические явления, периодическую или частую рвоту, отказ от корма, снижение массы тела, угнетение общего состояния.

После обследования собаки получали курс гирудотерапии: 6 сеансов, 1 раз в неделю, в дозе 1 пиявка на 5 кг веса. Во время лечения все животные находились под постоянным клиническим наблюдением.

Для удобства обработки результатов собаки были разделены на 3 группы: первая группа - 22 собаки массой до 10кг (собаки мелких пород), вторая группа – 65 собаки массой от 11 кг до 25кг (собаки средних пород), вторая группа - 39 собак массой от 26 кг (собаки крупных и гигантских пород).

Через три и шесть недель после начала лечения были проведены биохимические исследования сыворотки крови.

В сыворотке крови определяли содержание белка, глюкозы, мочевины, креатинина, билирубина, активность АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, ГГТ, ЛДГ, как наиболее полно характеризующие изменения обменных процессов при интоксикационном синдроме. (Денисенко, В.Н., Кесарева Е.А. 2006) Биохимические исследования сыворотки крови проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе марки CLIMA MC-15 в клинико-биохимической лаборатории СПбГАВМ.

При клиническом исследовании крови определяли количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокритную величину, корпускулярный объем эритроцитов и среднее содержание гемоглобина в эритроците, число лейкоцитов. Лейкограмму подсчитывали в мазках, окрашенных по методу Паппенгейма (Уша, Б.В. 2002). Гематологические исследования проведены на автоматическом гематологическом анализаторе «Micros 60-OT».

Концентрацию фибриногена определяли по Р.А. Рутберг, путем взвешивания количества фибриногена, образовывавшегося при свертывании плазмы крови избытком кальция и тромбина, путем высушивания (Уша, Б.В. 2002).

Для определения степени угнетения функции печени рассчитали коэффициент де Ритиса (Юрковский, О.И., Грицюк, А.М. 1995).

$$K \text{ де Ритиса} = \text{АсТ} / \text{АлТ}$$

Для определения соотношения агранулоцитов к гранулоцитам рассчитали индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) (Юрковский, О.И., Грицюк, А.М. 1995):

$$\text{ИСЛК} = \frac{\text{Э} + \text{Б} + \text{Н}}{\text{М} + \text{Л}}$$

Для определения изменения нормального процентного соотношения различных групп лейкоцитов нейтрофильного ряда рассчитывали индекс сдвига ядра нейтрофилов (ИСЯН) (Юрковский, О.И., Грицук, А.М. 1995):

$$\text{ИСЯН} = \frac{\text{Мл} + \text{Ю} + \text{П}}{\text{С}}$$

Для определения степени интоксикации и эффективности проводимой терапии рассчитывали Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по Кальфф-Калифу (Юрковский, О.И., Грицук, А.М. 1995):

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4\text{Мл} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) \times (\text{Пл} + 1)}{(\text{М} + \text{Л}) \times (\text{Э} + 1)}$$

где Мл – миелоциты, Ю – юные, П – палочкоядерные нейтрофилы, С – сегментоядерные нейтрофилы, Пл – базофилы, М – моноциты, Л – лимфоциты, Э – эозинофилы.

Весь цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием пакета программ «ORIGIN» на персональном компьютере. Достоверность различий приведена в таблицах при значении $p < 0,05$.

2.2. Техника постановки пиявок.

Пиявок приобретали в сети аптек города Санкт-Петербурга. Все пиявки, используемые нами, выращены в искусственных условиях. В природе медицинские пиявки (*Hirudo medicinalis*) питаются кровью животных пришедших на водопой или купающихся в воде. При этом им легче напасть на больных, ослабленных животных. Дикие пиявки при определенных условиях способны стать источником заболевания.

На основе одной из методик (Живогляд, Р. Н. 1997), применяемой в гуманной медицине нами была разработана методика постановки пиявок собакам при патологии печени и интоксикационном синдроме.

На каждые 5 кг массы тела животного мы применяли 1 пиявку с округлением в большую сторону. Пиявок ставили на пупочную область, это связано с тем, что в этой области хорошо развит крово- и лимфоток, и секрет слюнных желез проходит непосредственно через воротную вену.

Область постановки обрабатывали 70% раствором спирта, затем протирали теплым (примерно 40-45°C) 40% раствором глюкозы. Спирт и теплый раствор глюкозы стимулирует приток крови к коже, что облегчает процесс присасывания пиявок к необходимой зоне. Пиявки по одной помещаются в пробирку, которая приставляется к коже.

После присасывания пиявка прокусывала кожу. В этот момент она неподвижна, но затем появлялись волнообразные движения кожицы в головной части тела, что свидетельствовало о начале кровоизвлечения. В этот момент опускали сосуд вниз, убрав его из-под пиявки.

Когда пиявка насыщается, отсосав необходимое количество крови, она отпадает сама, поэтому отделять пиявок насильно не следует.

Отрывать пиявку пальцами, пинцетом или любым другим механическим способом нельзя. Если есть необходимость снять пиявку о того момента как она насытится, к спинке пиявки прикладывают вату, смоченную в спирте или йоде, при этом пиявка отваливается. В.И. Кристман (1974) рекомендует использовать в таких случаях слабый раствор соли.

На месте укуса пиявки остается ранка, боковые прокусы которой напоминают 3 сходящихся вместе луча, образующих латинскую букву Y. При правильном использовании пиявок такие ранки кровоточат слабо, но, тем не менее, долго (до 1 суток). Остаточное кровотечение не требует специальных мер по остановке.

Однако вытекающая кровь мешает пациенту, а сама незаживающая ранка может послужить воротами для инфекции. Поэтому на нее накладывают асептическую повязку, предварительно поместив на место укуса достаточно большой кусок ваты. По прошествии нескольких часов вся повязка пропитывается кровью. Ее оставляют нетронутой, добавив еще один слой ваты.

2.3. Влияние токсических воздействий на клинический статус, состояние системы крови и обменных процессов у собак.

На 26 сутки после моделирования интоксикационного синдрома, в результате введения высокотоксичного препарата у всех животных проявились клинические признаки: отказ от корма, неоднократная рвота, диарея, вялость, потускнение и взъерошенность шерстного покрова. Изменение клинического статуса животных сопровождалось изменением гематологических показателей.

Таблица 1
Влияние интоксикации на состояние эритропоэза ($M \pm m$, $n=6$).

Показатель	Интактные животные	После моделирования спустя 26 суток
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	5,94 \pm 0,18	5,08 \pm 0,39
Гемоглобин, г/л	106,0 \pm 2,34	121,5 \pm 3,62*
Гематокрит, %	34,82 \pm 0,81	32,22 \pm 2,09
Корпускулярный объем, $\times 10^{15}/л$	58,83 \pm 0,6	60,67 \pm 0,33
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	17,83 \pm 0,24	21,69 \pm 0,25*

Примечание. * - статистически достоверно при сравнении показателей животных до и после моделирования. ($P < 0,05$)

Так, была отмечена реакция эритроцитарного звена гемопоэза (таблица 1): после моделирования интоксикации в крови животных увеличилось содержание гемоглобина на 15,0% ($P < 0,05$), в основном за счет увеличения его концентрации в одном эритроците в 1,22 раза ($P < 0,05$), по сравнению с

исходным показателем. Такие изменения, на наш взгляд, связаны с компенсаторной реакцией на развивающуюся гипоксию.

Токсические воздействия также оказали влияние на лейкопоз (таблица 2). Введение препарата ивомек вызвало увеличение количества лейкоцитов в 5,03 раз ($P < 0,05$) с $9,27 \pm 0,87 \times 10^9/\text{л}$ до $46,66 \pm 2,28 \times 10^9/\text{л}$ по сравнению с исходным уровнем, что свидетельствует о развитии воспалительной реакции, связанной с токсическим поражением печени.

Таблица 2
Влияние интоксикации на состояние лейкопоза ($M \pm m$, $n=6$).

Показатель	Интактные животные	После моделирования Спустя 26 суток
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	9,27±0,87	46,66±2,28*
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2,73±0,54	2,66±0,67
Палочкоядерные нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,26±0,06	0,63±0,32
Сегментоядерные нейтрофилы, %	57,5±1,41	53,0±2,76
Сегментоядерные нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	5,34±0,53	24,49±1,70*
Эозинофилы, %	11,67±0,76	10,16±0,96
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$	1,07±0,08	4,76±0,56*
Моноциты, %	8,33±0,48	6,52±1,46
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,82±0,09	3,16±0,79*
Лимфоциты, %	20,33±1,81	28,83±2,08
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,91±0,21	13,43±1,08*
ЛИИ, ед	0,18±0,03	0,15±0,02
ИСЛК, ед	2,42±0,12	1,87±0,03*
ИСЯН, ед	0,049±0,001	0,050±0,002

Примечание. * - статистически достоверно при сравнении показателей животных до и после моделирования. ($P < 0,05$)

Таблица 3
Влияние интоксикации на основные показатели, характеризующие обменные процессы. ($M \pm m$, $n=6$).

Показатель	Интактные животные	После моделирования спустя 26 суток
Белок, г/л	50,42 ±1,16	62,01±2,04
Глюкоза, ммоль/л	6,16 ±0,51	4,13±0,32*
Мочевина, моль/л	3,34±0,3	5,51±0,08*
Креатинин, мкмоль/л	54,45±1,98	88,45±4,1*
Билирубин, мкмоль/л	2,07±0,15	2,08±0,17

Примечание. * - статистически достоверно при сравнении показателей животных до и после моделирования. ($P < 0,05$)

Токсическое воздействие, как со стороны препарата, так и со стороны гибнущих гельминтов оказали влияние на состояние форменных элементов: в крови животных спустя 26 суток после дегельминтизации увеличилось количество агранулоцитов. Это свидетельствует о вовлечении в процесс иммунокомпетентных клеток, отвечающих за проявление специфических иммунных реакций. Изменений, характеризующих проявление неспецифических иммунных реакций выявлено не было, индекс сдвига ядра нейтрофилов после моделирования практически не имел отличий от аналогичного показателя у интактных животных.

Таблица 4
Влияние интоксикации на ферментативную активность сыворотки крови ($M \pm m$, $n=6$).

Показатель	Интактные животные	После моделирования спустя 26 суток
АЛТ, МЕ/л	50,0 \pm 1,1	43,37 \pm 2,04
АСТ, МЕ/л	49,83 \pm 4,23	78,18 \pm 1,77*
щелочная фосфатаза, МЕ/л	88,42 \pm 43,13	185,8 \pm 13,17*
ГГТ МЕ/л	6,00 \pm 0,32	6,08 \pm 0,49
ЛДГ МЕ/л	178,63 \pm 42,46	274,28 \pm 41,29

Примечание. * - статистически достоверно при сравнении показателей животных до и после моделирования. ($P < 0,05$)

В результате биохимических исследований было выявлено влияние развившейся интоксикации на состояние основных обменных процессов в организме собак (таблица 3).

Токсическое состояние в большей степени отразилось на углеводном и белковом обменах, это, на наш взгляд, связано с пониженным потреблением пищи, рвотой, дегидратацией, и снижением выведения токсических продуктов. Так, уровень глюкозы после моделирования интоксикации снизился на 32,5% до 4,13 \pm 0,32 ммоль/л ($P < 0,05$). Содержание мочевины в сыворотке крови исследованных животных после введения ивомека увеличилось на 65,0% и составило 5,51 \pm 0,08 ммоль/л ($P < 0,05$). Уровень креатинина в сыворотке крови собак повысился на 62,4% до 88,5 \pm 4,1 мкмоль/л ($P < 0,05$).

Развитие интоксикационного синдрома у животных сопровождалось повреждением гепатоцитов, что подтверждалось увеличением активности АСТ в 1,57 раза до 78,18 \pm 1,77 МЕ/л, и активности щелочной фосфатазы (таблица 4) в 2,10 раза до 185,8 \pm 13,17 МЕ/л ($P < 0,05$).

Таким образом, интоксикация сопровождается не только клиническими проявлениями, но и реакцией со стороны всего организма: отмечается компенсаторная реакция со стороны эритроцитарного звена гемопоэза, проявляющаяся увеличением содержанием гемоглобина в эритроцитах; со стороны лейкоцитарного звена гемопоэза – реакция грануло-

цитарного звена, характеризующаяся развитием специфических иммунных реакций.

2.4. Сравнительная оценка способов лечения с применением карсила и гирудотерапии.

В результате проведенных исследований было выявлено, что ни общепринятая терапия с использованием карсила, ни гирудотерапия не оказали существенного влияния на эритропоз: количество эритроцитов, концентрация гемоглобина, средний объем эритроцитов и концентрация гемоглобина в них не претерпевали достоверных изменений у животных в подопытной и контрольной групп.

При сравнительном изучении влияния детоксирующей терапии на систему лекопозза была отмечена однотипная реакция, которая характеризовалась достоверным снижением содержания лейкоцитов в крови животных обеих групп. Причем у животных, которых лечили с помощью пиявок, уменьшалось абсолютное содержание эозинофилов в 25,0 раз ($p < 0,05$) с $4,76 \pm 0,63 \times 10^9/\text{л}$ до $0,19 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$, в то время как в контрольной группе при использовании карсила аналогичный показатель снижался в 9,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным значением, изменившись с $4,75 \pm 0,48 \times 10^9/\text{л}$ до $0,51 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$.

Абсолютное содержание моноцитов в крови у животных подопытной группы также снижалось в 9,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным показателем до начала лечения (с $2,51 \pm 1,01 \times 10^9/\text{л}$ до $0,27 \pm 0,12 \times 10^9/\text{л}$), а в контрольной группе аналогичный показатель снижался только в 4,9 раза ($p < 0,05$), изменившись с $2,51 \pm 1,01 \times 10^9/\text{л}$ до $0,27 \pm 0,12 \times 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарный индекс интоксикации, свидетельствующий о степени интоксикации, возрастал в обеих группах, но в подопытной – в 4,6 раза ($p < 0,05$) с $0,15 \pm 0,01$ ед до $0,69 \pm 0,16$ ед, а в контрольной только в 3,3 раза с $0,14 \pm 0,02$ ед до $0,47 \pm 0,05$ ед, в основном за счет снижения количества эозинофилов в крови животных. Следовательно, применение гирудотерапии в большей степени способствовало детоксикации организма, уменьшению концентрации гистаминаподобных веществ, что подтверждалось динамикой изменений лейкоцитарного профиля: уменьшение содержания эозинофилов и моноцитов в крови обследованных животных.

Индекс сдвига лейкоцитов крови у животных, для лечения которых применялся карсил, приблизился к значению показателя интактных животных $2,29 \pm 0,09$ ед, а у группы животных, которой применяли гирудотерапию этот показатель оставался неизменным $1,825 \pm 0,15$ ед.

Индекс сдвига ядра нейтрофилов в группе контрольных животных возрос в 2,17 раза с $0,012 \pm 0,002$ ед до $0,026 \pm 0,002$ ед, а в группе подопытных в 2,12 раза с $0,037 \pm 0,02$ ед до $0,082 \pm 0,001$ ед, такая динамика показателя свидетельствует о благоприятном течении воспалительного процесса.

Применение гирудотерапии оказало позитивное влияние на состояние белкового и углеводного обменов в большей степени, чем лечение карсиллом. Так, концентрация мочевины в сыворотке крови животных леченных пиявками уменьшилась в 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателями до начала лечения с $5,48 \pm 0,13$ моль/л до $3,26 \pm 0,09$ моль/л и достигла нормативных значений, у контрольных животных аналогичный показатель снизился в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным, изменившись с $5,54 \pm 0,13$ моль/л до $4,05 \pm 0,46$ моль/л.

Концентрация креатинина в сыворотке крови подопытных животных снижалась после лечения в 1,2 раза ($p < 0,05$) с $89,5 \pm 8,26$ мкмоль/л до $77,8 \pm 2,97$ мкмоль/л, в то время как в контрольной группе аналогичный показатель не претерпевал изменений.

Уровень глюкозы в крови подопытных животных возрастал более интенсивно (с $4,0 \pm 0,6$ до $5,4 \pm 0,58$ ммоль/л) по сравнению с исходным значением в 1,4 раза ($p < 0,05$), чем у контрольных.

Ферментативная активность сыворотки крови также отражала позитивное влияние гирудотерапии. Так, активность щелочной фосфатазы снизилась у животных подопытной группы в 2 раза ($p < 0,05$) с $178,93 \pm 24,47$ МЕ/л до $90,3 \pm 17,12$ МЕ/л по сравнению с исходной и достигла нормативных значений, в контрольной же группе у животных аналогичный показатель оставался на исходно высоком уровне.

Коэффициент де Ритиса, отражающий степень поражения печени, в обеих группах снижался в 2 раза ($p < 0,05$) и достигал нормативных значений (в контрольной группе с $1,86 \pm 0,19$ ед до $0,89 \pm 0,19$ ед, в подопытной с $1,78 \pm 0,07$ ед до $0,92 \pm 0,04$ ед).

Таблица 5

Влияние гирудотерапии на концентрацию фибриногена в сыворотке крови. ($M \pm m$, $n=6$)

	Норма	До курса гирудотерапии	После курса гирудотерапии
Количество фибриногена г/л	1,5-3	$1,9 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,4$

При изучении влияния гирудотерапии на концентрацию фибриногена в сыворотке крови собак (таблица 5) было выявлено, что количество фибриногена в крови исследуемых животных достоверно не отличались до и после курса гирудотерапии. Из чего можно сделать вывод, что гирудотерапия не оказала существенного влияния на свертываемость крови у собак.

Таким образом, применение гирудотерапии оказало положительное влияние на все изученные показатели. Клинический статус животных отражал исчезновение симптомов интоксикации. Гематологические показатели характеризовали купирование воспалительной реакции, причем активизировались как неспецифические, так и специфические компоненты им-

мунной защиты. Метаболические процессы у животных, леченых пиявками, проходили на уровне интактных животных.

Секрет пиявок также не оказывал негативного влияния на концентрацию фибриногена, одного из ключевых факторов системы гемостаза.

2.5. Клиническая апробация метода

При клинической апробации обращали внимание на основные показатели, характеризующие метаболические процессы организма больных собак.

Результаты исследований представлены в таблицах 6, 7, 8.

Через 6 недель после начала лечения у всех животных были ярко выражена положительная динамика в клиническом состоянии организма: появился аппетит, исчезли диспепсические явления, рвота.

Таблица 6

Динамика биохимических показателей у больных собак мелких пород при гирудотерапии. ($M \pm m$, $n=22$)

Показатели	До лечения	После начала лечения	
		Через 3 недели	Через 6 недель
Общий белок, г/л	47,36±1,26	54,31±0,95	56,53±1,09*
Мочевина, ммоль/л	2,75±0,57	3,41±0,26	4,89±0,11*
Креатинин, мкмоль/л	26,21±2,19	54,37±1,52	68,71±2,11*
Билирубин, мкмоль/л	15,90±1,21	6,91±0,54	4,53±0,38*
АЛТ, МЕ/л	142,14±8,69	82,41±6,03	47,16±3,08*
АСТ, МЕ/л	98,09±4,5	73,36±5,61	48,31±3,68*
Глюкоза, ммоль	4,15±0,34	4,71±0,26	4,92±0,23
Щелочная фосфатаза МЕ/л	91,67±2,59	64,17±2,35	46,9±2,86*

Примечание: * - статистически достоверно ($P < 0,05$) при сравнении показателей до лечения и спустя 6 недель после начала лечения.

Таблица 7

Динамика биохимических показателей у больных собак средних пород при гирудотерапии. ($M \pm m$, $n=65$)

Показатели	До лечения	После начала лечения	
		Через 3 недели	Через 6 недель
Общий белок, г/л	49,91±1,56	56,23±1,21	57,51±1,31*
Мочевина, ммоль/л	2,81±0,57	3,81±0,25	4,92±0,15*
Креатинин, мкмоль/л	24,50±2,34	52,28±2,12	66,81±2,82*
Билирубин, мкмоль/л	13,12±1,62	6,02±0,89	4,18±0,34*
АЛТ, МЕ/л	131,42±8,59	78,84±8,03	45,12±3,78*
АСТ, МЕ/л	95,11±5,80	71,12±5,56	46,71±4,23*
Глюкоза, ммоль	4,35±0,33	4,81±0,18	4,83±0,19
Щелочная фосфатаза МЕ/л	83,11±3,12	62,98±2,12	46,4±2,56*

Примечание: * - статистически достоверно ($P < 0,05$) при сравнении показателей до лечения и спустя 6 недель после начала лечения.

Исследования показали, что гирудотерапия оказала положительное влияние на биохимические показатели сыворотки крови, которые при-

близились или достигли нормативных значений. В частности, из таблиц 6, 7, 8 видно, что уровень белка в сыворотке крови увеличился на 19,4% в первой группе, на 15,2% во второй группе, и на 12,3% в третьей группе, что свидетельствует о снятии воспаления печени, и восстановлении функций желудочно-кишечного тракта, его способности усваивать питательные вещества.

Таблица 8

Динамика биохимических показателей у больных собак крупных и гигантских пород при гирудотерапии. (M±m, n=39)

Показатели	До лечения	После начала лечения	
		Через 3 недели	Через 6 недель
Общий белок, г/л	51,24±1,76	58,14±1,31	57,56±1,32*
Мочевина, ммоль/л	2,91±0,54	4,19±0,26	5,1±0,16*
Креатинин, мкмоль/л	22,12±2,99	49,32±2,52	65,11±3,07*
Билирубин, мкмоль/л	12,36±0,81	5,48±0,94	4,01±0,38*
АЛТ, МЕ/л	123,56±8,68	76,37±7,05	43,31±2,08*
АСТ, МЕ/л	92,67±6,5	69,31±6,61	45,31±4,68*
Глюкоза, ммоль	4,56±0,29	4,80±0,26	4,32±0,23
Щелочная фосфатаза МЕ/л	81,56±2,59	64,32±2,55	46,45±1,75*

Примечание: * - статистически достоверно ($P < 0,05$) при сравнении показателей до лечения и спустя 6 недель после начала лечения.

Количество мочевины за время лечения увеличилось на 77,81%, 75,0% и 75,3% в первой, второй и третьей группах соответственно, достигнув, таким образом, нормативного значения. Такая динамика показателя может свидетельствовать о восстановлении способности всасывания белка.

Из приведенных в таблицах 6-8 данных видно, что позитивное влияние гирудотерапии проявляется уже через недели после начала лечения у собак всех трех весовых групп. Еще более активные изменения метаболических показателей зарегистрировали спустя 6 недель после начала лечения.

У собак всех трех групп достоверно увеличивалось содержание белка в сыворотке крови на 20-12%, уровень мочевины примерно на 75%, содержание креатинина в 2,62-2,73-2,94 раза, что свидетельствует об активности метаболизма белка.

Установлено, что у собак всех групп снижалась концентрация билирубина в крови 3,1 раза, что может служить показателем восстановления функции печени.

Ферментативная активность сыворотки крови также претерпевала однонаправленные изменения у животных всех испытываемых групп. Так активность АЛТ снизилась через 6 недель после начала лечения примерно в 2,8 раза во всех группах животных. Активность АСТ снизилась в 2 раза. А активность щелочной фосфатазы понизилась в первой группе в 1,95 раза, в 1,79 во второй группе, и в 1,75 в третьей группе, что свидетельствует о восстановлении функции гепатоцитов и снятии интоксикационного синдрома.

Таким образом, при клинической апробации были подтверждены основные результаты, полученные в модельном опыте, причем колебания метаболических показателей были однотипны, вне зависимости от весовых категорий собак.

3. ВЫВОДЫ

1. Разработанная техника постановки пиявок является наиболее удобной для применения собакам, по сравнению с известными методиками, применяемыми в гуманной медицине.

2. Интоксикация сопровождается как клиническими проявлениями, так и реакцией со стороны всего организма: отмечается компенсаторная реакция со стороны эритроцитарного звена гемопоэза, проявляющаяся увеличением содержанием гемоглобина в эритроцитах; со стороны лейкоцитарного звена гемопоэза – реакция гранулоцитарного звена, характеризующаяся развитием специфических иммунных реакций. Обменные процессы характеризуют состояние пониженного питания и нарушения метаболизма белка.

3. Применение гирудотерапии оказало положительное влияние на клинический статус животных, что характеризовалось исчезновением симптомов интоксикации в среднем на 2 дня раньше, чем при традиционном методе лечения карсилом.

4. Динамика гематологических показателей при использовании гирудотерапии свидетельствовала о купировании воспалительной реакции, причем активизировались как неспецифические, так и специфические компоненты иммунной защиты. При лечении карсилом реакция системы крови была менее выражена.

5. Метаболические процессы у животных, леченных пиявками, проходили на уровне интактных, в контрольной группе изменения аналогичных показателей, характеризующие метаболические процессы, были незначительны, и не достигали нормативных значений.

6. Ферментативная активность сыворотки крови отражала позитивное влияние гирудотерапии. Так, активность щелочной фосфатазы снизилась у собак опытной группы в 2,0 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходной и достигла нормативных значений, в контрольной же группе у животных аналогичный показатель оставался на исходно высоком уровне.

7. При клинической апробации метода были подтверждены основные результаты, полученные в модельном опыте, причем колебания метаболических показателей были однотипны вне зависимости от весовых и породных категорий собак.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

По результатам проведенных исследований подготовлены методические рекомендации по применению гирудотерапии у собак в дозе 1 пиявка на 5 кг веса животного 1 раз в неделю, 4 сеанса.

Разработанная методика моделирования интоксикационного синдрома у собак путем подкожного введения препарата ивомек в дозе 0,05 мл/кг трехкратно с интервалом между введениями 7 дней может быть использована в научно-исследовательской работе.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Лукоянова Л.А., Крячко О.В. Влияние гирудотерапии на некоторые гематологические и биохимические показатели при интоксикационном синдроме у собак/ Лукоянова Л.А., Крячко О.В.// Ветеринарная практика, 2009 - №1 (44). С 39-43.
2. Лукоянова Л.А. Обоснование использования гирудотерапии в ветеринарии / Лукоянова Л.А. // Мат. 50-ой Науч. конф. молодых ученых и студентов / СПбГАВМ – СПб, 2006. – С 12.
3. Лукоянова Л.А. Нагрузочный тест с сульфадимизином для определения функции печени у собак / Лукоянова Л.А. // Мат. 50-ой Науч.конф. молодых ученых и студентов СПбГАВМ / СПбГАВМ – СПб, 2006. – С 67-68.
4. Лукоянова Л.А. Опыт применения гирудотерапии при гепатопатиях у собак /Лукоянова Л.А.// Мат. 51-ой Науч. Конф. молодых ученых и студентов СПбГАВМ / СПбГАВМ –2007. – С – 14.
5. Лукоянова Л.А. Моделирование гепатопатии у собак с помощью Ивомека / Лукоянова Л.А. // Материалы 51-ой научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ / СПбГАВМ – 2007. – С – 11.
6. Лукоянова Л.А. Разработка методики гирудотерапии для купирования интоксикационного синдрома у собак / Лукоянова Л.А. // Материалы 51-ой научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ / СПбГАВМ –2007. С - 14
7. Крячко О. В., Лукоянова Л.А Влияние гирудотерапии на биохимические показатели крови при интоксикационном синдроме у собак/ Крячко О. В., Лукоянова Л.А // Практик, 2008 - №1. С - 92-95.
8. Лукоянова Л.А., Крячко О.В. Моделирование гепатита с выраженным интоксикационным синдромом у собак / Лукоянова Л.А., Крячко О.В. // Материалы международной конференции по патофизиологии животных, посвященной 200-летию ветеринарного образования в России и 200-летию СПбГАВМ /СПб., 2008. С- 48 – 49
9. Лукоянова Л.А. Крячко О.В. Рекомендации по применению гирудотерапии при интоксикационном синдроме у собак/ Лукоянова Л.А. Крячко О.В. - СПб.: Изд. СПбГАВМ, 2008. – 10 с.

Подписано в печать 02.09.2009 г.
Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,1. Тираж 100 экз.
Заказ № 1264.

Отпечатано в ООО «Издательство "ЛЕМА"»
199004, Россия, Санкт-Петербург,
В.О., Средний пр., д.24, тел./факс: 323-67-74
e-mail: izd_leva@mail.ru
<http://www.levaprint.ru>